



Discovery and Pharmacological Study of a Novel GPR142 Antagonist, CLP-3094 and a Metal Modulator, Zn ion

著者	MURAKOSHI Michiko
発行年	2017
その他のタイトル	GPR142における金属モジュレーターおよびアンタゴニストの同定と免疫抑制機能に関する研究
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2016
報告番号	12102甲第8160号
URL	http://hdl.handle.net/2241/00147570

氏名	村越 路子
学位の種類	博 士 (生物工学)
学位記番号	博 甲 第 8160 号
学位授与年月日	平成 29年 3月 24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科

学位論文題目 Discovery and Pharmacological Study of a Novel GPR142
Antagonist, CLP-3094 and a Metal Modulator, Zn ion
(GPR142 における金属モジュレーターおよびアンタゴニストの同定と免疫抑制機能に関する研究)

主査	筑波大学教授	農学博士	深水 昭吉
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	谷本 啓司
副査	筑波大学講師	博士 (農学)	石田 純治
副査	筑波大学講師	博士 (学術)	加香 孝一郎

論 文 の 要 旨

GPR142 は、ロドプシンファミリーに属する G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) である。GPR142 の標的に関する著者らの共同研究先であるアムジェン社は、本受容体の内因性リガンドとして腹水から中性アミノ酸 L-トリプトファン (Trp) を同定した。一方、著者はブタの脳の抽出物中に Trp とは異なる活性成分を見出し、粗精製状態の画分を用いて算出した仮の EC_{50} から、本活性成分が Trp に比べて 10 倍以上強い活性を持つことを示した。

審査対象論文の第二章では、著者は GPR142 の新規な内因性リガンド同定に関する研究を行い、クロマトグラフィーにより作製した活性物質の粗精製サンプルの分析結果から、亜鉛イオンの存在を示唆した。活性画分 ($EC_{50} = 4 \mu\text{g}/\text{mL}$) と塩化亜鉛 ($EC_{50} = 1.4 \mu\text{g}/\text{mL}$ ($10 \mu\text{M}$)) について比較検討実験を行い、ブタの脳抽出物中に存在する GPR142 に対するアゴニスト活性は、亜鉛イオンによるものであると結論付けた。さらに興味深いことに、亜鉛は単独で GPR142 に対するアゴニスト活性を示すのではなく、培地成分や血清中に含まれる Trp の活性を調整する positive modulator として機能することを明らかにした。

オーファン GPCR の研究においては、リガンド探索と並んで、シグナル研究や遺伝子欠損 (KO) マウス等を用いた基礎的機能研究が非常に重要なスタートポイントとなる。GPR142 は、インスリン分泌への関与が確認されている膵β細胞以外に、免疫細胞における高発現が確認されている。また、Trp とその代謝物、セロトニンおよびキヌレニン、炎症において重要な役割を果たすことが報告されている。第三章において著者は、免疫系調節における GPR142 の関与について検証するための研究を行い、

GPR142 KO マウスが抗 II 型コラーゲン (CII) 抗体誘導関節炎の誘発に耐性を示すことを明らかにした。また、コラーゲン誘導関節炎や硫酸デキストランナトリウム誘導大腸炎モデルにおいて、炎症誘発に対する優位な耐性は確認できなかったものの、GPR142 KO マウスでは血中 Trp 濃度の低下とキヌレニン濃度比の上昇を確認した。コラーゲン誘導関節炎モデルでは、発症に伴う GPR142 mRNA レベルの低下も確認し、GPR142 が自身の発現トリガンドである Trp 代謝周辺の炎症関連物質の制御と関連して、各種マウス炎症性病態モデルの発症に寄与していることを示唆した。

さらに著者は、GPR142 が関節リウマチ治療の標的分子となり得るという仮説を立て、その検証のためのツールとして GPR142 アンタゴニストの取得を試みた。High Throughput Screening を実施し、GPR142 に高い選択性を持つ CLP-3094 を取得した。また著者は、CLP-3094 が GPR142 の一過性発現により生じるリガンド非依存的な内在性の活性上昇を抑制し、インバースアゴニストとしての活性を持つことを見出した。著者は、抗 CII 抗体誘導関節炎モデルに対し投与した CLP-3094 が濃度依存的な炎症抑制傾向を示したものの、その効果は限定的であることを明らかにした。また、薬物動態 (pharmacokinetics) 解析の結果、CLP-3094 は生体内での安定性が非常に低く、薬効発現に十分な暴露濃度が得られていないと推測した。

審 査 の 要 旨

本論文は、オーファン GPCR の生体内における機能を解明することを目的として、内因性リガンドの同定と免疫系調節における関与について検討を行ったものである。著者は、ブタの脳抽出物から、GPR142 に対する活性化物質として亜鉛イオンを同定した。さらに、亜鉛が Trp の活性を調整する positive modulator として機能していることを世界で初めて示すことに成功した。今後は、GPR142 が Trp や亜鉛を介して、栄養センサーとしてインスリン分泌などのホメオスタシス維持に関与している可能性についての研究が行われることが期待される。

また、本論文では、免疫系調節における関与について、KO マウスを用いた解析から、GPR142 が自身の発現トリガンドである Trp の代謝によって産生される炎症性物質の制御に関連して、各種マウス炎症モデルの病態発症に寄与している可能性を示唆する結果を得ている。そこで、GPR142 が関節リウマチ治療の標的分子となり得るという仮説を立て、GPR142 選択的な新規のインバースアゴニスト化合物 CLP-3094 を取得し、本化合物を用いた検討により、GPR142 の免疫疾患における関与を示す初めての知見を得た。炎症性疾患発症に関与するメカニズムについては、以後の研究の発展が期待される。CLP-3094 の発見により、炎症性疾患発症において GPR142 を介した新規メカニズムの存在が示され、今後の炎症性疾患治療における新しい可能性を示した意義は大きいと考えられる。

平成 29 年 1 月 17 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (生物工学) の学位を受けるのに十分な資格を有する者として認める。